

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
 US Department of Commerce
 United States Patent and Trademark
 Office, PCT
 2011 South Clark Place Room
 CP2/5C24
 Arlington, VA 22202
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

| | |
|--|--|
| Date of mailing (day/month/year) 31 January 2001 (31.01.01) | |
| International application No. PCT/CN00/00164 | Applicant's or agent's file reference pc00261 |
| International filing date (day/month/year) 19 June 2000 (19.06.00) | Priority date (day/month/year) 18 June 1999 (18.06.99) |
| Applicant YUAN, Hao | |

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

14 December 2000 (14.12.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

| | |
|--|---|
| <p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p> | <p>Authorized officer S. Mafla</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p> |
|--|---|

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日:

2000年12月28日(28.12.2000)

PCT

(10) 国际公布号:

WO 00/78324 A1

(51) 国际分类号: A61K 35/78, A61P 7/02, 9/10, 17/02, 19/08, 19/10, 29/00, 31/02, 37/04

(21) 国际申请号: PCT/CN00/00164

(22) 国际申请日: 2000年6月19日(19.06.2000)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
99109147.7 1999年6月18日(18.06.1999) CN
99109886.2 1999年7月20日(20.07.1999) CN

(71)(72) 发明人/申请人: 夏浩(YUAN, Hao) [CN/CN]; 中国广东省广州市机场路10号广州中医药大学附属医院全国中医骨伤科疾病医疗中心, Guangdong 510405 (CN).

(74) 代理人: 隆天国际专利商标代理有限公司(LUNG TIN INT'L PATENT & TRADEMARK AGENT LTD.); 中国北京市海淀区知春路20号国际企业合作商务大厦504-511室, Beijing 100088 (CN).

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BE, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: THE LEAVES OF CAJANUS CAJAN(L.) MILLSP AND EXTRACT, FORMULATION AND USES THEREOF

(54) 发明名称: 木豆叶药材及其提取物、制剂及其用途

(57) Abstract: The invention discloses an extract of the leaves of *Cajanus Cajan*(L.) Millsp and a process for the preparation of them. The invention also discloses the new uses of the leaves of *Cajanus Cajan*(L.) Millsp and their extract, i.e. the uses for the preparation of medicaments for the treatment of ischemic necrosis of caput femoris and osteoporosis, for improvement index of hemorheology, for anti-inflammatory and analgesicization, for enhancement immune function and for the treatment of coronary heart disease angina, fracture, cerebral infarction, decubitus, infectious wound and infectious wound of open fracture.

(57) 摘要

本发明公开了一种木豆叶的提取物及其制备方法, 还公开了木豆叶药材及其提取物的新药物用途, 即木豆叶用于制备治疗股骨头缺血性坏死药物、治疗骨质疏松症药物、改善血液流变学指标药物、抗炎镇痛药物、增强免疫功能药物、治疗冠心病心绞痛药物、制备治疗骨折药物、制备治疗脑梗塞药物、治疗褥疮药物、治疗感染创面药物和治疗开放性骨折感染创面药物的用途。

WO 00/78324 A1

WO 00/78324

10/018981

PCT/CN00/00164

531 Rec'd PCT 18 DEC 2001

木豆叶药材及其提取物、制剂及其用途技术领域

本发明涉及木豆叶药材及其提取物，以及以木豆叶药材或其提取物制成的药物制剂。本发明还涉及木豆叶药材及其提取物的新用途，特别是在制药领域中的新用途，本发明属于中药领域。

背景技术

木豆叶生长于南方，为蝶形花科 *popilionaccae*，属 *adonum* 亚热带灌木植物。木豆叶又名柳豆、扭豆、豆蓉、柳点，其具有清热解毒、活血化瘀、抗菌消炎的作用，该药根部有清热解毒、止血止痛和杀虫作用，嫩叶嚼烂用于治疗口疮，压汁内服可消黄痘，捣烂的浆汁对外伤有祛腐生肌作用，叶的煎剂对咳嗽、腹泻等有效。CN1174052A 报道了木豆叶的药物用途，由于该药物是木豆叶与其他组份混合配伍使用，并没有对木豆叶进行提取，不能够清楚地获得木豆叶的有效部位，限制了木豆叶的应用。

发明的公开

本发明的一个目的是提供一种木豆叶的提取物，即其药物有效部位；

本发明的另一目的是提供一种制备所述木豆叶提取物的方法；

本发明的又一目的是提供以木豆叶药材或其提取物为药物活性成分的药物制剂；

本发明的再一目的是提供木豆叶及其提取物的新用途，即在制药中的新用途。

本发明的制备木豆叶提取物的方法如下：

(一) 原药材净化、炮制

木豆叶

[炮制]取木豆叶干燥的幼嫩枝叶，除去杂质和老枝，洗净、阴干，切成约 5cm 的小段，置洁净容器中备用。

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

(二) 药材提取、浓缩、干燥

取木豆叶，置多功能提取罐中，加药材量的 10 倍量水浸泡约 0.5-2 小时，加热煎煮 1-4 次，每次煎煮 1-2 小时，过滤，滤液立即抽入真空浓缩器（真空度为 -0.08MPa，温度为 60℃）中，浓缩至相对密度为 1.05-1.15（60℃ 热测），用 80 目滤布过滤，滤液采用连续式离心过滤，然后用喷雾干燥器干燥离心液，得到干浸膏粉，将所得的干浸膏粉置于洁净密闭容器中，制成了本发明的木豆叶有效部位提取物。

优选的药材提取物的制备方法为：取木豆叶，置多功能提取罐中，加药材量的 10 倍量水浸泡约 1 小时，加热煎煮 3 次，每次煎煮 1.5 小时，过滤，滤液立即抽入真空浓缩器，于真空度为 -0.08MPa，温度为 60℃ 的条件下浓缩至相对密度为 1.05-1.15（60℃ 热测），用 80 目尼龙布过滤，滤液采用连续式离心过滤，离心过滤的转速为 15000r.p.m，流量为 50L/小时，离心液经喷雾干燥器干燥，喷雾干燥器的进风口温度为 180℃，干燥时间为 4 秒，出风口温度为 80℃，将干燥后得到的干浸膏粉置于洁净密闭容器中。

本发明的木豆叶提取物作为药物活性成分，可以按照常规的制剂工艺制成临床制剂，例如，片剂、丸剂、散剂、胶囊剂、口服液等。其中药物制剂中木豆叶提取物的含量为治疗有效量，一般为 0.01-99.9%，优选 1-90%，更优选为 5-80%，最优选为 10-70%。另外也可将晒干的木豆叶药材磨成粉末，以其作为药物活性成分，按常规方法制成临床制剂。

本发明的木豆叶胶囊制备方法为：

在木豆提取物加入常规的赋形剂，如淀粉，或不加赋形剂，然后装入胶囊，即得。

本发明经过实验研究，证明了木豆叶药材及其提取物的以下新药物用途。

1. 木豆叶药材及其提取物用于制备治疗骨质疏松症的药物的用途

采用维甲酸制骨质疏松模型，观察木豆叶胶囊对实验性骨质疏松的影响。结果显示木豆叶胶囊能显著提高血清钙、磷含量，降低碱性磷酸酶含量，显著提高大鼠的 BMC 和 BMD。病理切片下观察，显示木豆叶胶囊能显著提高骨小梁

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

质量,减少破骨细胞数量,促进成骨细胞生长,从而达到防治骨质疏松的作用。

2.木豆叶药材及其提取物用于制备股骨头缺血性坏死的药物的用途

建立新西兰兔马血清一激素造成股骨头缺血性坏死的模型,之后给予高、中、低不同剂量木豆叶提取物胶囊剂治疗,同时设定正常对照组、模型对照组。通过股骨近端密度测定、放大X线片观察、光镜病理检查、电镜观察、骨组织代谢动力测定,结果显示木豆叶胶囊治疗激素性股骨头缺血性坏死有明显的效果。

3.木豆叶药材及其提取物改善血液流变学指标的作用

大鼠肠系膜微循环实验显示木豆叶胶囊能显著提高血液流速、流速微积分、流态微积分。对大鼠急性血瘀模型血液流变学指标的观察显示,木豆叶胶囊能显著提高全血比粘度、血浆比粘度、降低血沉。

4.木豆叶药材及其提取物用于制备抗炎镇痛药物的用途

小鼠耳廓二甲苯致炎实验和大鼠棉球肉芽肿实验表明,木豆叶胶囊能显著减轻二甲苯致炎的耳肿胀,减轻棉球肉芽肿。小鼠扭体法和热板法实验表明,木豆叶胶囊能显著减少扭体鼠数,延长第一次扭体时间及提高镇痛百分率,提高小鼠痛阈值。

5.木豆叶药材及其提取物用于制备增强免疫功能的药物的用途。

对醋酸泼尼松致小鼠免疫功能低下模型,木豆叶胶囊有提高单核细胞吞噬功能的趋势,能显著增加小鼠免疫器官(胸腺、脾脏)重量;显著增加鸡红细胞作免疫原的小鼠溶血素含量,并显著提高植物血凝素(PHA)刺激的体内过渡态T淋巴母细胞百分率和淋巴细胞转化率。

6.木豆叶药材及其提取物用于制备治疗褥疮的药物的应用

通过临床观察可见,使用木豆叶药材及其提取物治疗褥疮与传统的生肌膏相比,疗效明显优异,其不仅能缩短疗程,而且愈后瘢痕少。

7.木豆叶及其提取物用于制备治疗感染创面的药物的应用

木豆叶药材及其提取物具有促进创面上皮肉芽组织生长,增加创面血液供应,加速创面愈合,减少疤痕组织形成,提高愈合质量等作用。在抗感染方面观察到其对感染创面有较好的抗感染能力,反映在创面及炎症反应消退快,尤其是

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

用药后创面渗出很快减少，创面干净，提示该药有较好的抗炎性渗出的作用。

8. 木豆叶及其提取物用于制备治疗开放性骨折感染创面的药物的应用

木豆叶药材及提取物对临床感染创面具有较好的抗感染能力，能促进肉芽组织生长，增加创面血液供应，促进创面愈合的作用，尤其能在裸露于创面的骨面上生长出肉芽组织——“骨肉芽岛”。

同时临床治疗结果还显示了木豆叶及其提取物对冠心病心绞痛、脑梗塞、骨折都具有良好的疗效。

为了更好地理解本发明的实质，下面结合实施例对木豆叶提取物的制备、木豆叶药材及其提取物的药理试验及其结果进行详细的描述，以说明其在制药领域中的新用途。

实现本发明的最佳方式

实施例 1 木豆叶提取物及其胶囊制剂的制备

取同一批木豆叶药材 10kg，切段，加药材 10 倍量水，加热煎煮三次，每次煎煮 1.5 小时，过滤，合并滤液，于 -0.08Mpa 的真空度和 60℃ 下真空浓缩至相对密度为 1.15，离心 (15000r.p.m) 去沉淀，滤液喷雾干燥成干浸膏粉 (0.81kg)，将得到的干浸膏粉置于洁净密闭容器中备用。

将得到的木豆叶干浸膏粉按 0.5g/颗装入药用胶囊中制成胶囊制剂，以下称其为生脉成骨胶囊。

实验例 2 木豆叶制剂治疗骨质疏松症的药理作用

(一) 维甲酸骨质病变实验

实验材料

药物：生脉成骨胶囊；维甲酸，上海第六制药厂，批号：960322；龙牡壮骨冲剂，武汉健民制药厂，批号：960111。

动物：SD 系大鼠，广东省卫生厅动物场，体重 250-300g，雄性 100 只，合格证：96A02

饲料：广东省卫生厅动物场提供标准饲料

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

仪器：美国康宁系列：55 自动生化分析仪，美国 TECHNICON，RA2000，
DEXA (HologicQDR-2000operators Manual)

试剂：澳洲 TRACE (上海长征公司经销)。

方法与结果：

动物随机分为六组，即对照组、模型组、龙牡壮骨冲剂组和三个生脉成骨胶囊剂量组(三个剂量组的剂量分别为 7.68g/kg/天、3.84g/kg/天、1.92g/kg/天，临床生药用量为 1g/1kg/天)。对模型组、龙牡壮骨冲剂组和三个生脉成骨胶囊剂量组同时灌胃给予维甲酸 70mg/kg/天和药物两周后，停服维甲酸，对龙牡壮骨冲剂组和三个生脉成骨胶囊剂量组继续给药五周。对照组和模型组灌服蒸馏水 20ml/kg/天。测定以下各项指标。

(1) 血清钙、磷、碱性磷酸酶 (AKP)

清晨眼球取血 5ml，测定血清钙、磷、AKP，仪器采用 550 自动生化分析仪，美国 TECHNICON，RA2000，澳洲 TRACE，结果如表 1 所示。

结果显示：模型组血清磷含量与对照组相比，有显著降低 ($P<0.001$)。生脉成骨胶囊高、中、低剂量组钙、磷含量与模型组相比，有显著提高 ($P<0.001$ 、 $P<0.01$ 、或 $P<0.05$)，生脉成骨胶囊低剂量组碱性磷酸酶与模型组相比，有显著降低 ($P<0.05$)。

(2) 双光子骨密度测定骨面积 (AREA)、骨矿密度 (BMD)、骨矿含量 (BMC)。

大鼠采用 DEXA (Hologic QDR-2000 operators Manual)，在戊巴比妥钠麻醉下测定大鼠 AREA、BMD、BMC。定点测定 Global (整体大鼠)、R1 (左股骨头)、R2 (右股骨头)、R3 (右股骨)、R4 (左股骨)、R5 (腰椎)、NETAVG (R1、R2、R3、R4、R5 之和) 的 AREA、BMD、BMC。(结果见表 2、表 3)

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

表1 生脉成骨胶素对大鼠血清钙、磷、碱性磷酸酶的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | P | Ca | AKP |
|---------|-----|----------|--------------|--------------|---------------|
| 对照组 | 6 | 20ml 蒸馏水 | 2.53±0.12 | 2.15±0.29 | 329.17±32.30 |
| 模型组 | 8 | 20ml 蒸馏水 | 2.13±0.20*** | 1.91±0.35 | 334.38±97.63 |
| 龙牡壮骨冲剂组 | 8 | 5g | 2.49±0.19### | 2.14±0.17 | 341.75±37.48 |
| 生脉成骨胶素组 | 8 | 7.68g | 2.48±0.15### | 2.24±0.22# | 319.13±49.43 |
| 生脉成骨胶素组 | 8 | 3.84g | 2.45±0.12### | 2.29±0.24## | 282.13±26.22 |
| 生脉成骨胶素组 | 8 | 1.92g | 2.42±0.11### | 2.56±0.36### | 304.15±64.72# |

注: *P<0.05 **P<0.01 #P<0.05 ##P<0.01

*为模型组与对照组相比 P<0.05 **为模型组与对照组相比 P<0.01,

***为模型组与对照组相比 P<0.001 #为阳性药组或生脉成骨胶素组与模型组比较 P<0.05

##为阳性药组或生脉成骨胶素组与模型组比较 P<0.01

###为阳性药组或生脉成骨胶素组与模型组比较 P<0.001

以下表格除另有注明外, 其中的符号含义与此相同

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

表2 生脉成骨胶浆对大鼠Global和R5(腰椎) AREA、BMD、BMC的影响

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg | Global | | | R5 | | |
|---------|-----|----------|------------------|------------------|-------------------|----------------|----------------|------------------|
| | | | Area | BMC | BMD | Area | BMC | BM |
| 对照组 | 5 | 20ml 蒸馏水 | 56.4128±5.1772 | 6.5012±0.6180 | 0.11526±0.00356 | 2.70206±0.7308 | 0.3693±0.1073 | 0.13992±0.00383 |
| 模型组 | 5 | 20ml 蒸馏水 | 48.2382±6.2002** | 5.0524±0.7169*** | 0.10468±0.00586** | 2.7089±0.2626 | 0.3112±0.0522 | 0.11454±0.013** |
| 龙牡壮骨冲剂组 | 5 | 5g | 55.2327±3.4262# | 6.2946±0.6982## | 0.11372±0.00568## | 3.01614±0.6008 | 0.3878±0.1189 | 0.12664±0.0136 |
| 生脉成骨胶浆组 | 5 | 7.68g | 54.1496±3.7733# | 6.0855±0.6068# | 0.11228±0.00490# | 3.02076±0.1870 | 0.3958±0.365 | 0.13082±0.00456# |
| 生脉成骨胶浆组 | 5 | 3.84g | 58.5560±2.6876## | 6.6388±0.2893### | 0.11342±0.00393## | 3.03232±0.3288 | 0.3995±0.00269 | 0.13224±0.00643# |
| 生脉成骨胶浆组 | 5 | 1.92g | 49.9117±4.0395 | 5.5338±0.6037 | 0.11072±0.00516 | 2.77596±0.3044 | 0.3567±0.0692 | 0.12866±0.0141# |

WO 00/78327

PCT/DE00/01978

结果显示：模型组 Global 的 AREA、BMC 和 BMD 与对照组相比有显著降低 ($P<0.001$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.05$)。生脉成骨胶囊高、中剂量组 Global 的 AREA、BMC、和 BMD 与模型组相比有显著提高 ($P<0.001$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.05$)。模型组 R5 (腰椎) 的 BMD 与对照组相比有显著降低 ($P<0.01$)，生脉成骨胶囊组 R5 的 BMD 与模型组相比有显著提高 ($P<0.05$)，生脉成骨胶囊组的 BMC 和 AREA 与模型组相比，有提高趋势。

表 3 生脉成骨胶囊对大鼠 NETAVG AREA、BMC、BMD 的影响

| 组别 | NETAVG | | | | |
|---------|--------|----------|----------------|---------------|-------------------|
| | 例数 | 剂量/kg/天 | Area | BMC | BMD |
| 对照组 | 5 | 20ml 蒸馏水 | 5.1039±0.9459 | 0.6701±0.1478 | 0.13056±0.00563 |
| 模型组 | 5 | 20ml 蒸馏水 | 5.0508±0.3066 | 0.5656±0.0647 | 0.11190±0.01000** |
| 龙牡壮骨冲剂组 | 5 | 5g | 5.3048±0.9553 | 0.6645±0.1997 | 0.12322±0.01490 |
| 生脉成骨胶囊组 | 5 | 7.68g | 5.5173±0.2050# | 0.6858±0.0563 | 0.12416±0.00626# |
| 生脉成骨胶囊组 | 5 | 3.84g | 5.5819±0.4001 | 0.7006±0.0647 | 0.12546±0.00542# |
| 生脉成骨胶囊组 | 5 | 1.92g | 5.2240±0.6167 | 0.6369±0.0854 | 0.12156±0.01010 |

结果显示：模型组 NETAVG 的 BMD 与对照组相比有显著降低 ($P<0.01$)，生脉成骨胶囊高、中剂量组的 BMD 与模型组相比有显著提高 ($P<0.05$)，生脉成骨胶囊组的 BMC 和 AREA 与模型组相比，有提高趋势。

(3) 组织形态学检查

a. 方法

沿股骨头冠状面及股骨中段横断面剖截，10%福尔马林缓冲液固定，5%硝酸脱钙后流水冲洗。石蜡包埋，切片，HE 染色。在骨骼 HE 切片中观察骨小梁、成骨细胞、破骨细胞有无变化。

b. 结果

正常对照组：骨小梁规则、致密、无断裂。

模型组：骨小梁断裂、变细、减少、结构紊乱，甚至消失。造血细胞明显减少，髓腔扩大；成骨细胞明显减少，破骨细胞明显增多。

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

龙牡壮骨冲剂组：骨梁结构不规则，但没有明显变细，成骨细胞较模型组增多，破骨细胞无明显增加。

生脉成骨胶囊高剂量组：骨小梁结构正常、规则，无变细、减少；造血细胞丰富；成骨细胞增多，破骨细胞减少。

生脉成骨胶囊中剂量组：骨小梁结构基本正常、规则、无变细、减少；造血细胞较丰富，髓腔无明显扩大；成骨细胞增多，破骨细胞无明显增加。

生脉成骨胶囊低剂量组：骨小梁结构基本正常、规则，无明显变细，成骨细胞稍增多，破骨细胞无明显增加。

小结：

以上实验探讨了生脉成骨胶囊对维甲酸致骨质疏松的防治作用，结果显示生脉成骨胶囊能显著提高血清钙、磷含量，促进成骨细胞生长，提高骨小梁的质量，增加骨矿含量和骨矿密度，提示该药通过上述多种途径起到了补肾健骨作用，从而防治了骨质疏松。

(二)木豆叶胶囊治疗骨质疏松症的临床观察

1. 临床资料

选择 200 例病例，其中，男 78 例，女 122 例；年龄 45-50 岁 9 例，51-60 岁 28 例，61-70 岁 122 例，71-80 岁 34 例，81-99 岁 7 例，平均年龄 65 岁。主诉均有程度不同的自发性骨痛，呈持续或间歇发作，以腰背痛或髋膝关节痛多见，腰膝酸软无力，劳累后加重，不耐久坐，易疲乏，活动功能障碍或受限，有的甚至需常服止痛药以求缓解，但止痛效果差或药后又复痛。病程 3 个月-3.5 年不等，平均 9 个月。查体 127 例有程度不同的驼背或脊柱后突畸形，132 例伴有脊椎棘突压痛，叩击痛和髋膝关节叩击痛。X 射线检查示有脊椎压缩骨折者 112 例，髌部骨折 15 例，腕部骨折 27 例，上臂骨折 5 例，多发性骨折 6 例，均显示骨密度降低，骨皮质变薄、骨小梁纤细稀疏等明显的骨质疏松症，而排除其他骨病或转移癌等病理骨折。

2. 治疗方法

2.1 一般治疗 脊椎轻度压缩或中心凹陷性压缩骨折无需卧床；椎体压缩

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

≤1/3 者卧床 2 周；压缩≥1/2 或多椎体压缩变形，稳定性较差者卧床 3-5 周；均于伤椎中心加垫小枕以减轻日后脊突畸形。髌部骨折配合骨牵引或螺纹钉固定，卧床期间注意预防褥疮及肺部和泌尿系感染。

2.2 内服生脉成骨胶囊治疗

2.3 辅助治疗 中后期鼓励患者坚持一定的户外活动，以增加骨的应力刺激，增强骨骼的坚韧性，使筋骨强健，关节灵活。但要避免过剧的运动及搬负重物。有骨折者，局部配合红外线，TDP 灯照射和中药熏洗等方法治疗，以促进康复。

3. 治疗结果

3.1 疗效评定标准

显效：临床症状全部消失，恢复正常活动功能，骨折愈合或压缩变形椎体部分恢复，骨质疏松症改善。

有效：临床症状大部分消失，骨折愈合或延迟愈合，椎体压缩无加重，骨质疏松症改善或无明显变化，可恢复日常活动；或主要临床症状消失，活动功能明显改善。

无效：主要临床症状、体征如骨痛症状、活动功能及骨质疏松症均无改善或加重。

3.2 疗效评定结果 治疗 2-5 个月后，按上述标准评定疗效，结果显效 89 例，有效 29 例，总有效率 85.5%。其中 63 例经 3-5 年随访，均无再次发生骨折，身体状况恢复良好，38 例脊椎压缩骨折者恢复体力劳动。

实验例 3 木豆叶胶囊治疗冠心病心绞痛观察

1. 临床资料

45 例中男 30 例，女 15 例；年龄最大者 75 岁，最小者 38 岁，平均 54 岁；病程最短者 1 个月，最长者 10 年，平均 3 年又 2 个月。

按 1981 年世界卫生组织冠心病发作的诊断标准，及 1980 年第一届全国内科学术会议心血管病专业组制定的“冠状动脉性心脏病命名及诊断标准”，关于劳力性心绞痛分级确诊：劳力性心绞痛 37 例（I 级 5 例，II 级 16 例，III

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

级 10 例, IV 级 6 例)。自发型心绞痛 8 例, 其中伴有各种心律失常者 16 例。

2. 治疗方法

以生脉成骨胶囊治疗, 治疗前及治疗后每周查心电图 1 次。

3. 疗效标准与治疗结果

3.1 疗效标准

参照 1979 年 9 月全国中西医结合防治冠心病心绞痛, 心律失常研究座谈会修订的冠心病心绞痛疗效评定标准。

3.2 治疗结果

心绞痛症状治疗: 显效 29 例, 改善 15 例, 无效 1 例; 心电图疗效: 显效 13 例, 改善 16 例, 无效 16 例。所述合并心律失常者, 其症状多数消失或明显减少。

实验例 4 木豆叶胶囊治疗脑梗塞的作用

1. 一般资料

选择 60 例符合《中风病中医诊断和疗效评定标准》的病例, 并经 CT 检查确诊。随即将该 60 例病例分为两组, 其中治疗组 32 例, 男 23 例, 女 9 例; 年龄 53-78 岁, 平均年龄 64.8 岁; 病程 3 天-1 个月。对照组 28 例, 其中男 22 例, 女 6 例; 年龄 54-72 岁, 平均年龄 61.3 岁; 病程 2-7 个月。

2. 治疗方法

采用生脉成骨胶囊治疗。用法: 一次四颗, 每日三次。三个月为一个疗程。对照组采用复方丹参片治疗, 一次三片, 一日三次。全部患者治疗六个月。恢复期配合理疗和针灸治疗。

3. 疗效观察

3.1 疗效标准

基本治愈: 肌力提高 2 级以上, 神经系统体征基本消失。生活自理。

显效: 肌力提高 1-2 级, 生活不能自理。

无效: 肌力提高不足 1 级。

3.2 治疗结果

治疗组病例中, 基本治愈 14 例 (43.75%), 显效 13 例 (40.63%), 有效

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

2例(6.25%)，无效3例(9.37%)，总有效率为90.63%。对照组基本治愈8例(28.57%)、显效11例(39.29%)、有效4例(14.28%)、无效5例(17.86%)，总有效率为82.14%。两组对照有明显差异($t=3.425, p<0.01$)。

实验例5 木豆叶胶囊治疗骨折的临床观察

1. 临床资料

1.1 选择108例均为四肢新鲜闭合骨折的病例，其中男60例，女48例，年龄小18岁，最大79岁，平均年龄40.8岁；肱骨骨折11例，尺骨骨折30例，掌骨骨折14例，股骨骨折17例，胫腓骨骨折21例，跗跖骨骨折15例，所有病人都按就诊顺序分为两组，奇数为治疗组，偶数为对照组，各组54例。两组病人的年龄、性别、骨折部位大致相同($p>0.05$)，有可比性(见表4-表6)。

表4 两组患者年龄分布情况

| 年龄(岁) | 治疗组 | 对照组 | 合计 |
|-------|-----------|-----------|-----------|
| | 例(%) | 例(%) | 例(%) |
| 18-30 | 16(29.63) | 17(31.43) | 33(30.56) |
| 31-40 | 7(12.96) | 8(14.81) | 15(13.89) |
| 41-50 | 9(16.67) | 7(12.96) | 16(14.81) |
| 51-60 | 10(18.52) | 9(16.67) | 19(17.59) |
| 61-78 | 12(22.22) | 13(24.07) | 25(23.15) |

表5 两组患者性别分布情况

| 性别 | 治疗组 | 对照组 | 合计 |
|----|-----------|-----------|-----------|
| | 例(%) | 例(%) | 例(%) |
| 男 | 32(59.26) | 28(51.85) | 60(55.56) |
| 女 | 22(40.74) | 26(48.15) | 48(44.44) |

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

2001 DEC 17 AM 8:49
表 6 两组患者骨折部位分布情况

| 部位 | 治疗组 | 对照组 | 合计 |
|-----|-----------|-----------|-----------|
| | 例 (%) | 例 (%) | 例 (%) |
| 肱骨 | 5(9.26) | 6(11.11) | 11(10.19) |
| 尺桡骨 | 16(29.63) | 14(25.93) | 30(27.78) |
| 掌指骨 | 8(14.81) | 6(11.11) | 14(12.96) |
| 股骨 | 9(16.67) | 8(14.81) | 17(15.74) |
| 胫腓骨 | 9(16.67) | 12(22.22) | 21(19.44) |
| 跖趾骨 | 7(12.96) | 8(14.81) | 15(13.89) |

RECEIVED

DEC 17 2001

FISH & RICHARDSON, P.C.
BOSTON OFFICE

1.2 治疗方法 两组病人均常规采用传统的复位、固定、功能锻炼方法治疗。在此基础上治疗组口服木豆叶胶囊，每次 4 颗，每日 3 次，15 天为 1 个疗程，视病情需要可连服 1-3 个疗程或更长，对照组口服三七胶囊，每次 4 颗，每日 3 次，15 天为 1 个疗程。

1.3 疗效标准 根据骨折愈合时间评价

治愈：比同类骨折愈合提前 1/3 以上达到临床愈合标准。

显效：比同类骨折愈合时间提前 1/4 以上达到临床愈合标准。

有效：比同类骨折愈合时间提前 1/5 以上达到临床愈合标准。

无效：与同类骨折愈合时间相同。

骨折的临床愈合标准和常见骨折的临床愈合时间参照汤氏等的标准。功能恢复情况按杨氏评定标准，优：骨折愈合，关节活动范围正常或接近正常，恢复工作；良：骨折愈合，关节活动受限即在 30 度以上，生活可以自理；差：骨折愈合，关节活动明显受限，上肢前臂旋转受限或不能持重物，下肢关节疼痛或不负重步行。

1.4 治疗结果：

两组病例接受治疗 1-3 个疗程，骨折愈合时间比较见表 7。经统计学处理 χ^2 检验，两组间总有效率比较 ($P>0.05$)，差异无显著性。但对照组出现 1 例

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

差级病例，且优良率较治疗组略低。

表 7 两组患者骨折愈合时间比较 (天)

| 组别 | 治疗效果 | | | | 有效率(%) |
|-----|------|----|----|----|--------|
| | 治愈 | 显效 | 有效 | 无效 | |
| 治疗组 | 27 | 15 | 9 | 3 | 94.44 |
| 对照组 | 69 | 10 | 2 | 9 | 46.30 |

表 8 两组患者功能恢复情况比较

| 组别 | 治疗效果 | | | | 优良率(%) |
|-----|------|---|---|---|--------|
| | 优 | 良 | 可 | 差 | |
| 治疗组 | 47 | 6 | 1 | 0 | 98.15 |
| 对照组 | 44 | 8 | 1 | 1 | 96.30 |

实验例 6 木豆叶胶囊治疗股骨头缺血性坏死的药效学实验

1. 目的：评价生脉成骨胶囊治疗激素性股骨头缺血性坏死药效。

2. 方法：本实验建立马血清+激素致新西兰兔股骨头缺血性坏死的模型，5 月后确立模型成立，然后给予高、中、低不同剂量生脉成骨胶囊治疗，同时设定正常对照组、模型对照组。8 周后处死动物，行放大 X 线片、骨密度、光镜、电镜、骨代谢动力学等检查，以评价疗效。

3. 结果：(1) 马血清+激素可制造出典型的股骨头缺血性坏死模型；(2) 药效实验表明：(i) 放大 X 线片示生脉成骨胶囊高、中剂量组形态接近正常，模型组股骨近端骨密度不均，呈坏死表现；(ii) 光镜下各剂量组动物股骨头内空骨陷窝率均有下降，而血管计数、成骨细胞计数均有增加，与模型组比有显著差异 ($P<0.05$)；(iii) 电镜下各剂量组成骨细胞功能细胞器丰富，骨细胞以成骨相和吸收相为主；(iv) 股骨近端骨密度低剂量组高于其它各组，与模型组、正常对照组相比有显著差异 ($P<0.05$)；(v) 骨代谢动力学：高、低剂量组骨生长值与模型组相比有显著提高 ($P<0.05$)；(vi) 血液生化：血清总胆固

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

酶，甘油三脂水平在各组间无显著差异。

4. 结论：生脉成骨胶囊治疗激素性股骨头缺血性坏死的作用显著，其作用机理主要是促进骨组织血管、骨髓修复和再生；促进新骨生长。

实施例7 木豆叶胶囊改善大鼠急性血瘀模型血流变学指标实验

1. 实验材料

药物：生脉成骨胶囊；盐酸肾上腺素注射液 1mg/ml，杭州民生药厂提供，批号：951012；磷酸川芎嗪，广州市桥制药厂提供，批号：950116；戊巴比妥钠，批号 950202。

动物：SD 雄性大鼠 60 只，体重 150-200g，由广东省卫生厅动物场提供，合格证号 96A02。

2. 方法与结果

大鼠随机分成六组，即正常对照组、血瘀模型组、磷酸川芎嗪组和三个生脉成骨胶囊剂量组（剂量见表 9），对照组和血瘀模型组灌服等体积蒸馏水，各给药组按 2ml/100g/天体重灌服不同浓度药液，每天定时一次，连续 20 天，于末次给药 24h 后，除正常对照组外，各组动物皮下注射肾上腺素 2 次（0.8mg/kg），间隔 3 小时，并在首次注射肾上腺素 1.5 小时后，将大鼠置于 $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 水中浸泡 5 分钟，然后禁食，次日上午麻醉下（戊巴比妥钠 30mg/kg 腹腔注射）眼球取血，测定包括全血比粘度、血浆比粘度、血沉、红细胞压积的血流变指标。

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

表9 生脉成骨胶囊对大鼠急性性血瘀模型血流变学指标的影响 (x±s)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | 全血比粘度 | | 血浆比粘度 | 血沉 | 红细胞压积 |
|---------|-----|----------|---------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| | | | 低切 | 高切 | | | |
| 对照组 | 10 | 20ml 蒸馏水 | 18.83±1.10 | 5.43±0.30 | 1.87±0.10 | 1.40±1.43 | 42.60±1.35 |
| 血瘀模型组 | 7 | 20ml 蒸馏水 | 28.78±2.17*** | 6.44±0.19*** | 1.82±0.13 | 2.73±0.50*** | 45.86±1.85* |
| 川芎嗪组 | 11 | 90mg | 20.87±2.63### | 5.59±0.40### | 1.95±0.08 | 1.80±0.27## | 43.55±2.39 |
| 生脉成骨胶囊组 | 8 | 7.68g | 21.70±1.90### | 5.64±0.26### | 1.97±0.19 | 1.75±0.21## | 43.38±2.88 |
| 生脉成骨胶囊组 | 9 | 3.84g | 21.88±2.53### | 5.83±0.37## | 1.99±0.20# | 1.99±0.24# | 43.67±1.58 |
| 生脉成骨胶囊组 | 12 | 1.92g | 24.07±1.74### | 6.01±0.33## | 2.05±0.19## | 2.19±0.45 | 45.75±3.28 |

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

3. 实验结果

血瘀模型组与正常对照组相比较, 全血比粘度、血沉、红细胞压积均有显著性增高 ($p<0.05$ 、 $p<0.01$)。川芎嗪组和生脉成骨胶囊组的全血比粘度、血沉和模型组相比有显著降低。生脉成骨胶囊中低剂量组的血浆比粘度与模型组相比有显著降低 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。以上两个实验表明生脉成骨胶囊具有活血化瘀作用。

· 实施例 8 木豆叶胶囊的镇痛作用实验

(一) 小鼠扭体法实验

(1) 实验材料

药物: 生脉成骨胶囊; 消炎痛, 广东石岐制药厂提供, 批号 950306; 0.6%醋酸, 批号: 951025。

动物: NIH 小鼠 42 只, 体重 18-22g, 雌雄各半, 由广东省卫生厅动物场提供, 合格证号 96A03。

(2) 实验方法

小鼠随机分为 5 组, 即对照组 (0.2ml/10g 蒸馏水)、消炎痛组 (0.013g/kg), 三个生脉成骨胶囊剂量组 (剂量见表 10)。灌胃给药 7 天, 第 7 天给药 60 分钟后腹腔注射 0.6%醋酸溶液 (0.2ml/只), 观察每只小鼠第一次因疼痛引起扭体的时间, 10 分钟内出现小鼠扭体鼠数和镇痛百分率, 结果做统计学处理如表 10 所示。

表 10 生脉成骨胶囊对小鼠镇痛作用的影响 (扭体法) ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | 第一次出现扭体时间(s) | 扭体鼠数(只) | 镇痛百分率(%) |
|---------|-----|----------|------------------|---------|----------|
| 对照组 | 8 | 20ml 蒸馏水 | 214.75±47.74 | 8 | 0 |
| 消炎痛组 | 8 | 0.013g | 572.75±182.13### | 2## | 75## |
| 生脉成骨胶囊组 | 8 | 10.24g | 476.75±150.43### | 3## | 62.5## |
| 生脉成骨胶囊组 | 9 | 5.12g | 454.22±128.17### | 3## | 62.5## |
| 生脉成骨胶囊组 | 9 | 2.56g | 327.56±118.25 | 4 | 50 |

与对照组比较# $P<0.05$ ## $P<0.01$ ### $P<0.001$

(3) 实验结果

结果显示消炎痛组及生脉成骨胶囊高、中剂量组与对照组相比, 第一次出现扭

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

体时间均有显著性延长 ($P<0.001$), 扭体鼠数减少 ($P<0.01$) 和镇痛百分率提高 ($P<0.01$), 表明生脉成骨胶囊有抑制醋酸致小鼠疼痛的作用。

(二) 小鼠热板法实验

(1) 实验材料

药物: 生脉成骨胶囊; 消炎痛, 广东石岐制药厂提供, 批号 950306。

动物: NIH 小鼠 75 只, 雌性, 体重 18-22g, 由广东省卫生厅动物场提供, 合格证号 96A03。

(2) 实验方法

将水浴箱调节恒温 $55^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 放一大烧杯于水中, 将小鼠投入烧杯, 记录小鼠从投入杯至受热疼痛舔足的时间, 作为该鼠的痛阈值。筛选痛阈值在 5-30 秒的雌性小鼠, 随机分组为对照组、消炎痛组和三个生脉成骨胶囊剂量组 (剂量见表 11), 灌胃给药 7 天, 于第 7 天给药后 30 分钟、60 分钟分别测小鼠痛阈值, 观察给药后痛阈值的变化。室温应控制在 $15-20^{\circ}\text{C}$ 。

(3) 实验结果

表 11 生脉成骨胶囊对小鼠镇痛作用的影响 (热板法) ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | 给药前痛阈值 (S) | 给药后不同时间痛阈值 (S) | |
|---------|-----|---------|-------------------|---------------------|---------------------|
| | | | | 30min | 60min |
| 对照组 | 15 | 20ml | 18.80 ± 4.77 | 16.93 ± 4.42 | 16.47 ± 4.69 |
| 消炎痛组 | 14 | 0.013g | 18.93 ± 5.41 | $28.07 \pm 6.67###$ | $24.64 \pm 6.49###$ |
| 生脉成骨胶囊组 | 15 | 10.24g | 17.00 ± 4.583 | 21.27 ± 4.43 | $24.53 \pm 6.12###$ |
| 生脉成骨胶囊组 | 15 | 5.12g | 17.60 ± 4.92 | $24.67 \pm 7.26##$ | $21.27 \pm 4.04\#$ |
| 生脉成骨胶囊组 | 15 | 2.56g | 18.80 ± 4.14 | 20.20 ± 3.43 | $22.53 \pm 6.82##$ |

注: 与对照组比较 $\#P<0.05$ $##P<0.01$ $###P<0.001$

实验结果如表结果 11 所示, 可见各组小鼠灌胃前的痛阈值相比, 无显著性差异, 灌胃后 30 分钟, 消炎痛组和生脉成骨胶囊中剂量组与对照组相比痛阈值有显著提高 ($P<0.01$ 或 $P<0.001$), 60 分钟后消炎痛组和生脉成骨胶囊高、中、低剂量组与对照组相比痛阈值有显著提高。 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.001$)

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

实施例9 木豆叶胶囊的抗炎消肿实验

(一) 小鼠耳廓二甲苯致炎实验

(1) 实验材料

药物：生脉成骨胶囊；

动物：NIH小鼠40只，体重18-22g，由广东省卫生厅提供，合格证号96A03。

(2) 实验方法

小鼠随机分为5组，即对照组、消炎痛组和三个生脉成骨胶囊剂量组（剂量见表12），每组8只。小鼠按不同药物浓度灌胃给药7天，于第7天上午给药30分钟后，用二甲苯棉球接触左耳5秒，15分钟后将小鼠断颈处死，以打孔器将小鼠双耳同部位等面积切下，扭力天平称重，以每只鼠左耳减去右耳重量之差为肿胀程度，将对照组与给药组的肿胀程度做统计学处理。

(3) 实验结果

表12 生脉成骨胶囊对二甲苯所致小鼠耳廓炎症的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | 肿胀程度 (mg) |
|---------|-----|----------|-----------------------|
| 对照组 | 8 | 20ml 蒸馏水 | 0.8375 ± 0.3378 |
| 消炎痛组 | 8 | 0.013g | 0.5500 ± 0.258 |
| 生脉成骨胶囊组 | 8 | 10.24g | $0.3500 \pm 0.1195##$ |
| 生脉成骨胶囊组 | 8 | 5.12g | 0.8125 ± 0.5768 |
| 生脉成骨胶囊组 | 8 | 2.56g | $0.4875 \pm 0.2167\#$ |

注：与对照组相比# $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

实验结果如表12所示，可见生脉成骨胶囊高、低剂量组鼠耳廓肿胀程度与对照组相比，有显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，表明生脉成骨胶囊有抑制二甲苯致鼠耳廓肿胀作用。

(二) 大鼠棉球肉芽肿实验

(1) 实验材料

药物：生脉成骨胶囊；醋酸泼尼松，仙居制药股份有限公司，批号：950523。

动物：SD大鼠60只，体重150-200g，由广东省卫生厅动物场提供，合格证号96A02。

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

(2) 实验方法

大鼠随机分为 5 组，即对照组、醋酸泼尼松组和三个生脉成骨胶囊剂量组（剂量见表 13），每组 12 只。在戊巴比妥钠麻醉下，无菌操作，在鼠背中线做一切口，将已灭菌的棉球植入背部，缝合。用药组术前 3 天开始灌胃给药，术后再灌胃给药 7 天，第八天将大鼠剪头处死，剥离并取出棉球肉芽组织，于 60-90℃烘箱内干燥 1 小时后称重，减去原棉球重量，即为肉芽肿净重。比较各组的肉芽肿重量，做统计学处理。

(3) 实验结果

表 13 生脉成骨胶囊对大鼠棉球肉芽肿作用的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | 肉芽肿净重 (mg) |
|---------|-----|----------|----------------|
| 对照组 | 12 | 20ml 蒸馏水 | 64.29±6.72 |
| 醋酸泼尼松组 | 12 | 25mg | 33.45±13.10### |
| 生脉成骨胶囊组 | 12 | 7.68g | 56.24±6.12# |
| 生脉成骨胶囊组 | 11 | 3.84g | 56.41±8.14# |
| 生脉成骨胶囊组 | 12 | 1.92g | 52.37±10.58## |

注：与对照组相比 #P<0.05 ##P<0.01 ###P<0.001

实验结果如表 13 所示，可见与对照组比较，醋酸泼尼松组、生脉成骨胶囊各剂量组肉芽肿净重 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.01$)，表明生脉成骨胶囊有抑制肉芽肿的作用。

实施例 10 木豆叶胶囊的增强免疫功能作用实验

(一) 非特异性免疫功能实验

1. 实验材料

药物：生脉成骨胶囊；左旋咪唑，由广东石岐制药厂提供，批号：950406；醋酸泼尼松，由仙居制药股份有限公司提供，批号：950523

动物：NIH 小鼠 65 只，体重 18-22g，雌雄各半，由广东省卫生厅动物场提供，合格证号 96A03。

2. 实验方法

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

小鼠动物随机分为六组，即对照组、模型组、左旋咪唑组、三个生脉成骨胶囊剂量组(剂量见表 14)。其中模型组、左旋咪唑组和三个生脉成骨胶囊组用 0.3%醋酸泼尼松灌胃 0.2ml/10g 六天，同时以不同药物灌胃 20 天，而对照组用蒸馏水灌胃。在第 20 天时给药后于 30 分钟，尾静脉注入中华墨汁 0.01ml/10g 后于 2、12 分钟眼眶取血 10ul 放入 0.1%Na₂CO₃ 溶液 3ml 摇匀，置 722 光栅光度计 ($\lambda = 620$) 比色，测定光密度 (OD)，按下式计算吞噬指数 K 及吞噬指数 α ：

$$K = \frac{\log OD_1 - \log OD_2}{T_1 - T_2}$$

$$X = \frac{W}{WLS} \sqrt{K}$$

式中 OD 为不同时间所取血样的光密度， $T_2 - T_1$ 为取两血样本的时间差，W 为体重，WLS 为肝脾合重。结果做统计学处理。最后将动物脱颈处死，分别称取脾、胸腺重量。按免疫器官重量法测定各鼠免疫器官重量，对计算免疫器官指数结果做统计学处理。

3. 实验结果

表 14 生脉成骨胶囊对小鼠单核吞噬细胞功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | 吞噬指数 K | 吞噬活性 α |
|---------|-----|----------|-----------------------|---------------------|
| 正常对照组 | 10 | 20ml 蒸馏水 | 0.0374 \pm 0.0143 | 5.2784 \pm 0.9169 |
| 模型组 | 12 | 20ml 蒸馏水 | 0.0187 \pm 0.00582* | 4.7002 \pm 0.6249 |
| 左旋咪唑组 | 12 | 0.04g | 0.0273 \pm 0.00852 | 5.1964 \pm 0.7761 |
| 生脉成骨胶囊组 | 13 | 10.24g | 0.0259 \pm 0.0135 | 5.2355 \pm 1.2854 |
| 生脉成骨胶囊组 | 9 | 5.12g | 0.0216 \pm 0.0112 | 4.7861 \pm 1.1155 |
| 生脉成骨胶囊组 | 9 | 2.56g | 0.0207 \pm 0.0071 | 5.3286 \pm 0.8556 |

表 14 为木豆叶胶囊对小鼠单核吞噬细胞功能的影响，可见模型组 K 与对照组相比有显著降低 ($P < 0.01$)，生脉成骨胶囊各剂量组的 α 和 K 有增高趋势。

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

表 15 生脉成骨胶囊对小鼠免疫器官的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | 免疫器官系数 (mg/kg) | |
|--------|-----|---------|------------------------|-----------------------|
| | | | 胸腺 ($\bar{x} \pm s$) | 脾 ($\bar{x} \pm s$) |
| 对照组 | 11 | 20ml | 2.772 \pm 0.875 | 61.83 \pm 1.908 |
| 模型组 | 12 | 20ml | 1.114 \pm 0.268*** | 41.08 \pm 1.081*** |
| 左旋咪唑组 | 12 | 0.04 | 1.501 \pm 0.334# | 52.82 \pm 0.887### |
| 生脉成骨胶囊 | 12 | 10.24 | 1.764 \pm 0.271### | 54.75 \pm 1.758### |
| 生脉成骨胶囊 | 11 | 5.12 | 1.425 \pm 0.133### | 47.56 \pm 1.758### |
| 生脉成骨胶囊 | 11 | 2.56 | 1.201 \pm 0.207 | 40.11 \pm 0.887 |

表 15 是木豆叶胶囊对小鼠免疫器官的影响, 可见生脉成骨胶囊高、中两个剂量组均可显著增加其免疫器官胸腺, 脾脏的重量 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。说明生脉成骨胶囊可提高小鼠的非特异性免疫功能, 有对抗免疫功能低下的作用。

(二) 小鼠溶血素含量实验

1. 实验材料

药物: 生脉成骨胶囊; 左旋咪唑, 由广东石岐制药厂提供, 批号: 950406; 醋酸泼尼松, 由仙居制药股份有限公司提供, 批号: 950523; 5% 生理盐水鸡红细胞混悬液、10% 补体 (生理盐水: 鼠血清 = 3:2)。

动物: NIH 小鼠 60 只, 体重 18-22g, 雌雄各半, 由广东省卫生厅动物场提供, 合格证号 96A03。

2. 实验方法

动物给药与分组与前述非特异性免疫功能实验相同。于给药第一天腹腔注射 5% 鸡红细胞 0.2ml/只, 免疫后 7 天, 眼球取血, 离心, 取血清用生理盐水稀释 100 倍, 取稀释血清 1ml, 与 5% 鸡红细胞悬液 0.5ml 和 10% 补体 0.5ml 混合, 在 37℃ 恒温箱中保温 30 分钟后, 0℃ 冰箱中中止反应。

对配成的实验液施行离心操作, 取上清液置 722 光栅光度计 ($\lambda = 620$) 比色, 测定光密度 (OD), 另设不加血清的对照组, 取其上清液注入作为比色时调 "0" 的

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

基础，以 OD 续数作为判定血清溶血素的指标，结果做统计学处理。

3. 实验结果

表 16 生脉成骨胶囊对鸡红细胞作免疫原的小鼠溶血素含量影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 剂量/kg/天 | OD(光密度值) |
|---------|----|----------|------------------------|
| 对照组 | 10 | 20ml 蒸馏水 | 0.9083 \pm 0.1790 |
| 模型组 | 10 | 20ml 蒸馏水 | 0.5055 \pm 0.1488*** |
| 左旋咪唑组 | 10 | 0.04g | 0.7370 \pm 0.1444 |
| 生脉成骨胶囊组 | 10 | 10.24g | 0.6820 \pm 0.33802 |
| 生脉成骨胶囊组 | 10 | 5.12g | 0.8180 \pm 0.3441## |
| 生脉成骨胶囊组 | 10 | 2.56g | 0.8110 \pm 0.3072# |

实验结果如表 16 所示，可见模型组与对照组比较，OD 值有显著降低 ($P < 0.001$)，表明醋酸泼尼松能显著降低小鼠用鸡红细胞作免疫原的溶血素含量。生脉成骨胶囊中，低剂量组与模型组相比，OD 有显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。表明生脉成骨胶囊可显著增加醋酸泼尼松致免疫功能低下时鸡红细胞作免疫原的小鼠溶血素的含量，具有提高体液免疫，对抗免疫抑制的作用。

(三) 细胞免疫实验

1. 实验材料

药物：生脉成骨胶囊；左旋咪唑，由广东石岐制药厂提供，批号：950406；PHA（植物血凝素）暨南大学生物系提供，批号：960611；5% 生理盐水鸡红细胞混悬液、10% 补体（生理盐水：鼠血清 = 3:2）。

动物：NIH 小鼠 60 只，体重 18-22g，雌雄各半，由广东省卫生厅动物场提供，合格证号 96A03。

2. 实验方法

小鼠随机分为 6 组，即对照组、模型组、左旋咪唑组和三个生脉成骨胶囊剂量组（剂量见表 17）。灌胃给药，每天一次，连续 7 天。末次给药后，所有动物均腹腔注射 5% 鸡红细胞混悬液 0.2ml 进行免疫，并且给予 PHA 0.025ml/10g 腹腔注射，连

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

续三天 (PHA 1 支 + 生理盐水 0.7ml), 除对照组外, 其他组每天灌服醋酸泼尼松 3g/kg, 连续 7 天, 末次给药后 12 小时按鸡红细胞作免疫原的溶血素测定法进行实验。

3. 实验结果

表 17 生脉成骨胶囊对小鼠淋巴细胞转化反应的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | 剂量/kg/天 | 淋巴母细胞(%) | 过渡态细胞(%) | 淋巴细胞转化率 (%) |
|---------|-----|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 正常对照组 | 10 | 20ml 蒸馏水 | 0.2390 \pm 0.04725 | 0.2890 \pm 0.02726 | 0.5280 \pm 0.03458 |
| 模型组 | 10 | 20ml 蒸馏水 | 0.2010 \pm 0.03929 | 0.2320 \pm 0.03736** | 0.4330 \pm 0.03561*** |
| 左旋咪唑组 | 10 | 0.04g | 0.4310 \pm 0.05043### | 0.3050 \pm 0.04950### | 0.7370 \pm 0.03234### |
| 生脉成骨胶囊组 | 10 | 10.24g | 0.3650 \pm 0.1083### | 0.2740 \pm 0.04766# | 0.6390 \pm 0.07795### |
| 生脉成骨胶囊组 | 10 | 5.12g | 0.3350 \pm 0.05297### | 0.2530 \pm 0.03401# | 0.5870 \pm 0.03561### |
| 生脉成骨胶囊组 | 10 | 2.56g | 0.4000 \pm 0.06218### | 0.2750 \pm 0.04720# | 0.6750 \pm 0.03923### |

实验结果如表 17 所示, 可见模型组的过渡态细胞和淋巴细胞转化率与正常对照组相比有显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 模型组的淋巴母细胞与对照组比较有降低趋势; 生脉成骨胶囊三个剂量组和左旋咪唑组淋巴母细胞和淋巴细胞转化率与模型组相比, 有显著提高 ($P < 0.001$), 生脉成骨胶囊高、低剂量组和左旋咪唑组的过渡态细胞与模型组相比有显著提高 ($P < 0.05$), 表明生脉成骨胶囊有提高小鼠细胞免疫功能的作用。

实验例 11 木豆叶药材及提取物对褥疮合作作用的临床研究

1. 药物

木豆叶药材及其提取物; 生肌膏, 其由氧化锌、冰片、黄丹、石炭酸、凡士林、硼酸等物组成, 是广州中医药大学第一附属医院骨科与外科治疗创面感染 30 余年的经验方。

2. 纳入标准

2.1 褥疮的分期标准: 依据全国中等卫生学校试用教材《基础护理学》中有关褥疮的分期标准与判断标准。

第一期即瘀血红润期: 局部皮肤受压后, 出现暂时的血液循环障碍 (反应性瘀血) 表现为红、肿、热、痛。

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

形成肉芽组织而覆盖创面。而生肌膏则未能观察到这一现象，其肉芽组织只从四周向中央慢慢爬行，很难覆盖裸露的骨面，须改用其他提取物的抑菌作用。可见使用木豆叶药材及其提取物的病例，褥疮创面肉芽出现快，能够迅速覆盖创面，分泌物少，同时木豆叶药材及其提取物经体外抑菌实验证实对金黄色葡萄球菌有较好的抑菌效果，其作用相当于庆大霉素（平面纸片法），动物实验也证实该药对于急性、亚急性、慢性炎症模型均有抑菌作用。我们在临床应用该药过程中，一直没有发现该药有毒副作用，患者反映良好。

实验例 12 木豆叶药材及其提取物对治疗开放性骨折感染创面的作用的临床研究

1. 临床资料

病例 18 个，年龄从 14 岁到 70 岁，病因有 6 例由于创伤引起，7 例创伤后行内固定术后，3 例创伤引起截肢，2 例由于坏疽截肢术后。其中并胫腓骨下 1/3 骨折 8 例，胫腓骨上 1/3 骨折 3 例，股骨下 1/3 骨折 2 例。

2. 治疗方法

所有病例创面局部仅用木豆叶药材及提取物外敷治疗，浓度为 1:2（即木豆叶药材及提取物加注射用蒸馏水配制成的浓度为 1:2 的溶液），PH 值为 5.3，消毒后瓶装备用。按无菌要求换药，将浸泡过药液的纱块浸湿创面，外以凡士林油纱及无菌敷料覆盖、包扎，创面感染明显时，每日给药一次；肉芽组织出现，创面渗出物减少时，每日给药一到两次；当创面被新鲜肉芽组织完全覆盖后，改用庆大霉素生理盐水混合液湿敷，三天后中厚皮片游离植皮，术后三天，继续中药湿敷，直至创面愈合。

3. 观察内容

在用药前与用药后的不同时间进行创面动态彩色摄像，观察创面感染变化；将创面分泌物做细菌培养及药敏实验；观察上皮肉芽组织、肉芽岛出现时间、演变规律、生长情况及创面愈合时间。对创面肉芽做组织学检查。

4. 结果

临床中 15 例创面在 3 天内感染得到控制，3 例因创面感染时间较长，且伴有骨感染、骨坏死，需将死骨摘除后感染方能控制。用药后渗出物很快减少，创面肉芽

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

组织在用药后 2-5 天出现, 呈鲜红色, 触之易出血, 到四周即可覆盖创面。

5. 结论

木豆叶药材及提取物对临床感染创面具有较好的抗感染能力, 能促进肉芽组织生长, 增加创面血液供应, 促进创面愈合的作用, 尤其能在裸露于创面的骨面上生长出肉芽组织——“骨肉芽岛”。

实验例 13 木豆叶药材及提取物对开放性感染创面的愈合作用

1. 木豆叶药材及提取物对开放性感染创面愈合的影响

1.1 实验材料

木豆叶药材及提取物, 浓度为 1:2 (即木豆叶药材及提取物加注射用蒸馏水配制成的浓度为 1:2 的溶液), PH 值为 5.3, 消毒后瓶装备用。

建立家兔双前肢感染创面的模型: 健康家兔 19 只, 雌雄不分, 体重 2-2.8kg, 分三批手术建立双前肢开放性创伤面模型, 随后接种细菌。通过预实验证实在创面接种植物后 72 小时创面感染达高峰。

1.2 药物应用

创面感染达到高峰后外用上药, 第一周每日给药两次, 第 2 周至创面基本愈合时每日给药一次, 创面基本愈合到完全愈合, 每隔三日换药一次; 每次换药保证药量一致。以呋喃西林为对照组。

1.3 指标的观察与评定方法

测量时点为创面形成后、创面用药前、用药后每三天一次; 测量方法采用创面周沿描绘法; 通过对创面面积随时间变化的曲线图以及各组各时点的面积数值进行统计学处理; 并对创面上皮与肉芽组织以及疤痕组织进行肉眼观察与光镜检查; 进行创面愈合时间的测定。

1.4 实验结果

木豆叶药材及提取物对创面的修复作用在用药第 9 天后较对照明显占优, 最终愈合时间较对照组提前一周左右, 其差异有显著性意义 ($p < 0.05$)。

1.5 实验结论

木豆叶药材及提取物具有促进创面上皮肉芽组织生长, 增加创面血液供应, 加

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

速创面愈合,减少疤痕组织形成,提高愈合质量等作用。

2. 木豆叶药材及提取物对开放性感染创面的抗感染能力

2.1 实验材料

木豆叶药材及提取物,浓度为 1:2 (即木豆叶药材及提取物加注射用蒸馏水配制成的浓度为 1:2 的溶液), PH 值为 5.3, 消毒后瓶装备用。

建立家兔双前肢感染创面的模型:健康家兔 6 只,雌雄不分,体重 2.5-3kg。分三批手术建立双前肢开放性创伤面模型,随后接种细菌,病菌浓度增加到 9 亿个细菌/ml。通过预实验证实在创面接种细菌后 36 小时创面感染达到高峰。

2.2 药物应用

创面感染达到高峰后外用上药,每日给药两次(上午八时,下午四时各一次),以生理盐水为对照组。

2.3 观察内容

在用药前与用药的不同时间进行创面动态彩色摄像,观察创面感染变化;观察创面周围红晕环范围大小及颜色变化,了解创面充血情况,观察周围肿胀程度及创面分泌物数量的变化情况,以了解创面的渗出情况。

2.4 实验结果

木豆叶药材及提取物对创面的修复作用在用药第 9 天后较对照组明显占优,最终愈合时间较对照组提前一周左右,其差异有显著性意义 ($p < 0.05$)。

2.5 实验结论

木豆叶药材及提取物对感染创面有较好的抗感染能力,反映在创面及炎症反应消退快,尤其是用药后创面渗出很快减少,创面干净,提示该药有较好的抗炎性渗出的作用。

实验例 14 木豆叶药材及提取物应用于感染创面 564 例疗效观察

1. 临床资料

将木豆叶药材及其提取物 6 年多来临床应用于外伤创面、感染创面、烧伤感染、褥疮等病种,对 564 例病例的疗效进行观察。

2. 实验方法

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

第二期为炎性浸润期,局部红肿部分向外浸润、扩大、变影,皮肤转为紫黑色,常在表皮有水泡形成,患者有疼痛感。

第三期即浅度溃疡期:水泡破溃,局部感染,浅层组织坏死,溃疡形成。

第四期即坏死溃疡期:坏死组织侵入真皮下层和肌肉层,露出韧带,脓液较多,坏死组织呈黑色,有臭味,可脱落,感染向周围和深层组织扩展,可达骨骼,严重者甚至引起脓血症。

2.2 褥疮的计算方法标准:(1)面积:按照平面几何图形的面积计算方法计算。(2)褥疮愈合时间指数:褥疮愈合时间指数=(褥疮面积×褥疮期数)/褥疮愈合天数。

2.3 疗效判定标准:(1)愈合时间:从开始用药到创面完全愈合的天数。(2)愈合标准:上皮覆盖创面,创面完全消失为愈合。

2.4 病例选择的纳入标准:(1)病种:只选择颅脑损伤、下肢骨折、脊柱损伤合并截瘫的褥疮患者。(2)部位:只统一选取骶尾部褥疮的病例。(3)褥疮分期的选择标准:符合(1)、(2)标准,褥疮为 II 期以上者。(4)年龄和性别:符合(1)(2)(3)标准者,任何年龄、性别均可。

2.5 病例的排除标准:烧伤感染溃疡或痛疽、疖肿病例,以及结核、痔疮溃疡等引起的骶尾部感染病例排除在外。

3. 治疗方法

3.1 清创:按褥疮的伤口情况进行清创,常规消毒后,消除全部坏死无活力的软组织及死骨,直到软组织或骨面渗血为止,用双氧水或优琐、生理盐水冲洗伤口。

3.2 换药:在清创后的创面上,用生肌膏或木豆叶药材及其提取物,涂布整个伤口,每天换药一次,每次换药必须按换药常规洗净旧药,敷上新药。创面开始长出上皮后,均改为每 3-4 天换药一次。

4. 两组患者的一般情况

4.1 木豆叶药材及其提取物组:男 34 例,女 16 例,年龄 19-86 岁,褥疮面积最大者为 19cm×12cm(IV 期),最小者为 2cm×1cm(II 期),平均面积为 17.5cm²。

4.2 生肌膏组:男 22 例,女 17 例,年龄 19-90 岁,褥疮面积最大者为 8cm×7cm(IV

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

期), 最小者为 $2\text{cm} \times 1\text{cm}$ (II 期), 平均面积为 9.9cm^2 。

5. 结果

5.1 两组褥疮愈合时间对照

结果如表 18 所示, 可见木豆叶药材及其提取物组对于褥疮的愈合时间比生肌膏组短 14 天 ($P < 0.01$), 差别有显著性意义。

表 18 两组褥疮愈合时间对照表 ($\bar{X} \pm S$)

| 组别 | 例数 | 愈合天数 |
|------|----|-------------------|
| 木豆叶组 | 50 | 28.16 ± 16.72 |
| 生肌膏组 | 39 | 44.54 ± 30.49 |

5.2 褥疮分期愈合时间 (天数) 比较

结果如表 19 所示, 可见两组褥疮分期的治疗愈合时间差别不显著, 提示疗效相近。

表 19 两组中期到褥疮愈合时间比较表 ($\bar{X} \pm S$)

| 组别 | II 期 例数 | III 期 例数 | IV 期 例数 |
|------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 木豆叶组 | $12.30 \pm 8.02(12)$ | $26.90 \pm 12.37(23)$ | $43.14 \pm 14.06(15)$ |
| 生肌膏组 | $18.50 \pm 7.2(13)$ | $44.20 \pm 16.41(18)$ | $87.50 \pm 30.41(8)$ |

 $P < 0.05$ $P < 0.001$ $P < 0.01$

5.3 褥疮愈合时间指数对比

表 20 两组褥疮愈合时间指数对比 ($\bar{X} \pm S$)

| 组别 | 总体指数 | II 期 | III 期 | IV 期 |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 木豆叶组 | 1.47 ± 1.18 | 0.87 ± 0.34 | 1.21 ± 0.84 | 2.33 ± 1.57 |
| 生肌膏组 | 0.74 ± 0.35 | 0.52 ± 0.16 | 0.71 ± 0.31 | 1.06 ± 0.52 |

 $P < 0.01$ $P < 0.01$ $P < 0.01$ $P < 0.01$

计算愈合时间作为对比, 是衡量比较药物功效的较为科学和准确可靠的方法, 指数越高, 说明功效越好, 指数越低, 功效越差。两组褥疮愈合时间指数的对比情况如表 20 所示, 可见木豆叶药材及其提取物对褥疮的治疗作用确切、优异。

临床上观察到当褥疮处的骨质裸露时, 使用木豆叶药材及提取后可在裸露骨质表面出现数个小点血管翳, 继而生长成肉芽, 与周围向中央生长的肉芽连成一片,

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

感染创面分泌物细菌培养、多使用绿脓杆菌变形杆菌、大肠杆菌、白色葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、少数枯草杆菌、产气杆菌。感染创面经用木豆叶药材及提取物外敷 3-5 天后，分泌物、臭味减少，腐烂组织较快祛除，逐步呈现出鲜红的肉芽创面，较大创面经敷药 2 周，基本可以植皮：暴露骨骼，经敷药后见哈佛氏系统生长肉芽岛，逐渐复盖骨面；肌腱部位一定要用药液保持湿润，以免坏死。

3. 常用制剂

(1) 木豆鲜叶洗净经 1% 新洁尔灭浸泡 20 分钟，晾干后捣烂，直接敷于创面，或是在创面上敷一层纱布，然后将药敷在纱布外，药液可以透过纱布作用于创面，外加敷料包扎。(2) 用 200% 的木豆叶药材及提取物浓缩剂，湿敷创面，二者相比前者疗效较好。(3) 用叶煮水浸泡创面 30 分钟左右。

4. 结果

(1) 临床观察木豆叶药材及提取物对于感染创面有去腐生肌的作用，一般外敷 3-5 天，较大创面外敷 1-2 周，分泌物即明显减少，臭味很快地消除，疗效较满意。

(2) 外敷木豆叶药材及提取物后生长的肉芽呈鲜红色，很少有水肿，较优琐 (Eusol) 液、1% 腐植酸钠液、生理盐水等外敷后所产生的肉芽更为鲜红而旺盛，鲜叶较煮出液效果更好，因此认为木豆叶药材及提取物不但有杀菌、抑菌的作用，而且有消炎的作用，可能还有一种促进细胞生长的营养因素。烧伤点状植皮后的感染创面用木豆叶药材及提取物湿敷后不但可以控制感染，而且可以看到所植皮片的生长速度较未用该药部位的皮片生长速度为快。

(3) 烧伤创面的痂下感染，或植皮以后引起的感染，处理上比较困难，尤其是植皮后有绿脓杆菌感染，我们使用 200% 木豆叶药材及提取物湿敷半暴露，效果比用抗生素湿敷更好，不会有由于抗菌素引起抗药性的顾虑。

工业应用性

木豆叶是南方亚热带地区种植的种豆类多年生植物，故其药源广泛，便于推广应用，且本发明提供的制备木豆叶提取物的方法简便易行。经动物试验和临床疗效观察证明，木豆叶及其提取物对股骨头缺血性坏死、骨质疏松症、改善血液流变学

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

指标、抗炎镇痛、增强免疫功能、冠心病心绞痛、骨折、脑梗塞、褥疮、感染创面药物和开放性骨折感染创面等病症具有明显的疗效，药理作用强。木豆叶及其提取物作为药物活性成分可按照常规的制剂工艺制成如片剂、丸剂、散剂、胶囊剂、口服液等各种临床制剂，具有良好的工业应用性。

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

权利要求

1、一种木豆叶提取物，

其特征在于，该提取物是以下述方法制备而成的物质：取木豆叶药材，置多功能提取罐中，加药材量的10倍量水浸泡约0.5-2小时，加热煎煮1-4次，每次煎煮1-2小时，过滤，滤液立即抽入真空浓缩器，于真空度为-0.08Mpa，温度为60℃下浓缩至相对密度为1.05-1.15(60℃热测时)，用80目滤布过滤，滤液采用连续式离心过滤，离心液经喷雾干燥器干燥，干浸膏粉即为木豆叶提取物。

2、根据权利要求1所述的木豆叶提取物，

其特征在于，木豆叶加水浸泡1小时，加热煎煮三次，每次煎煮1.5小时，离心过滤的转速为15000r.p.m，流量为50L/小时，喷雾干燥器的进风口温度为180℃，干燥时间为4秒，出风口温度为80℃。

3、一种药物制剂，

其特征在于，其以木豆叶或其提取物为药物活性成分。

4、木豆叶药材及其提取物的新用途，

其特征在于，制备治疗骨质疏松症的药物用途。

5、木豆叶药物及其提取物新的用途，

其特征在于，用制备治疗股骨头缺血性坏死的药物用途。

6、木豆叶药材及其提取物的新用途，

其特征在于，用于制备改善血液流变指标的药物用途。

7、木豆叶药物及其提取物的新用途，

其特征在于，用于制备抗炎镇痛药物的用途。

8、木豆叶药材及其提取物的新用途，

其特征在于，用于制备增强免疫功能的药物的用途。

9、木豆叶药物及其提取物的新用途，

其特征在于，用于制备治疗冠心病心绞痛药物的用途。

WO 00/78324

PCT/CN00/00164

10、木豆叶药材及其提取物的新用途，
其特征在于，用于制备治疗骨折药物的用途。

11、木豆叶药材及其提取物的新用途，
其特征在于，用于制备治疗脑硬塞的药物的用途。

12、木豆叶药材及其提取物的新用途，
其特征在于，用于制备治疗褥疮的药物的用途。

13、木豆叶药材及其提取物的新用途，
其特征在于，用于制备治疗感染创面的药物的用途。

14、木豆叶药材及其提取物的新用途，
其特征在于，用于制备治疗开放性骨折感染创面的药物的用途。

要求书必须直接向主管国际初步审查单位提出或者,如果有二个或二个以上主管单位,由申请人选择其一。申请人应当在下面横线上指明该单位的全称或两个字母的代码:

IPEA/CN

PCT

第 II 章

国际初步审查要求书

根据专利合作条约第 91 条:下列签字人请求对下述国际申请按照专利合作条约进行国际初步审查并因此选定所有可以选定的国家(除了被另外指明的国家)

由国际初步审查单位填写

| | |
|----------|---------|
| 国际初步审查单位 | 收到要求书日期 |
|----------|---------|

| | | |
|---|--|--|
| 第 I 栏 国际申请事项 | | 申请人或代表人的档案号 PC00261 |
| 国际申请号 PCT/CN00/00164 | 国际申请日 (日/月/年) 19.6 月 2000(19.06.00) | (最早的) 优先权日 (日/月/年) 18.6 月 1999 (18.06.99) |
| 发明名称 木豆叶药材及其提取物、制剂及其用途 | | |
| 第 II 栏 申请人 | | |
| 姓名(或名称)和地址: (姓在前,名在后;法人应该填写正式全称。地址应包括邮政编码和国名。) 袁浩 YUAN, Hao 中国广东省,广州市机场路 10 号广州中医药大学附属医院 全国中医髋关节疾病医疗中心,邮编: 510405 Chinese Medicine Coxarthropathy Treatment Center of the Hospital Attached to Guangzhou Chinese Medicine University, No. 10, Airport Road, Guangzhou City, Guangdong Province China. 510405 | | 电话号码: 传真号码: 电传号码: |
| 国籍(即,国家名称): CN | 居所(即,国家名称): CN | |
| 姓名(或名称)和地址: (姓在前,名在后;法人应该填写正式全称。地址应包括邮政编码和国名。) | | |
| | | |
| 国籍(即,国家名称): | 居所(即,国家名称): | |
| 姓名(或名称)和地址: (姓在前,名在后;法人应该填写正式全称。地址应包括邮政编码和国名。) | | |
| | | |
| 国籍(即,国家名称): | 居所(即,国家名称): | |
| <input type="checkbox"/> 其余申请人注明在续页中。 | | |

第 2 页

国际申请号 PCT/CN00/00164

第III栏 代理人或共同代表; 或通信地址

下面写明的人是: ☒ 代理人☐ 共同代表并且 ☒ 是早先已经委托的, 他在国际初步审查中也代表申请人。☐ 是通过本文件委托的, 任何在先委托的代理人或共同代表因此而被撤消。☐ 是除在先已委托的代理人或共同代表外, 通过本文件专门为国际初步审查程序委托的。

姓名(或名称)和地址:(姓在前, 名在后; 法人应该填写正式全称。

地址应包括邮政编码和国名。)

隆天国际专利商标代理有限公司

中国北京海淀区知春路 20 号国际企业合作商务大厦 504-511 室

邮编: 100088

LUNG TIN INT'L PATENT & TRADEMARK AGENT LTD.

Suite 504-511, Int'l Enterprises Cooperation Business Tower, No.20,
Zhichun Road, Haidian District, Beijing 100088, China.

电话号码:

010-62029699

传真号码:

010-62028833

电传号码:

☐ 通信地址: 如果未委托/未委托过代理人或共同代表, 并把上栏中注明的地址作为通信的专门地址, 在此方格中作出标记。

第IV栏 国际初步审查的基础

关于修改的声明: *

1. 申请人希望国际初步审查单位在下列文件基础上开始审查:

☒ 原始提交的国际申请

说明书

☐ 原始提交的☐ 根据条约 34 条修改的

权利要求

☐ 原始提交的☐ 根据条约 19 条修改的(连同所附任何声明)☐ 根据条约 34 条修改的

附图

☐ 原始提交的☐ 根据条约 34 条修改的2. ☐ 申请人希望根据条约 19 条对权利要求的任何修改被认为取消。3. ☐ 申请人希望把国际初步审查的开始时间推迟到自优先权日起 20 个月期限届满, 除非国际初步审查单位收到依据条约第 19 条进行修改的副本或者收到申请人不希望依据条约第 19 条作出的修改的声明(细则 69.1(d))(如果条约第 19 条所述的期限已经届满, 不得在本方格作标记。)

* 如果未对任何方格作出标记, 国际初步审查在原始提出的国际申请基础上开始, 或者, 如果国际初步审查单位在开始起草书面意见或国际初步审查报告之前收到依据条约第 19 条对权利要求的修改或依据条约第 34 条对国际申请文件的修改的副本, 将在这样修改的国际申请基础上进行。

为了国际初步审查的语言:

☒ 是提交国际申请的语言。☐ 是为了国际检索的目的提供译文的语言。☐ 是国际申请公布的语言。☐ 是为了国际初步审查的目的提供译文的语言。

第V栏 国家的选定

申请人选定除下列国家以外的所有可被选定的国家(即所有受 PCT 第II章约束的指定国)

排除下列申请人不希望选定的国家:

第 3 页

国际申请号

第VI栏 清单

为国际初步审查目的, 国际初步审查要求书附有使用第 IV 栏中提到的语言的下列文件

- | | | |
|--------------------------------------|---|---|
| 1. 国际申请的译文 | : | 页 |
| 2. 根据条约 34 条的修改 | : | 页 |
| 3. 根据条约 19 条的修改的副本 (如果需要的话, 或其译文) | : | 页 |
| 4. 根据条约 19 条的声明的副本 (如果需要的话, 或其译文) | : | 页 |
| 5. 信件 | : | 页 |
| 6. 其他 (明确指出): | : | 页 |

由国际初步审查单位填写

已收到

未收到

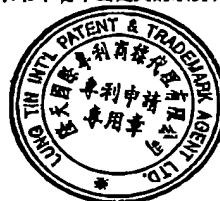
☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐

国际初步审查要求书还附有下列作出标记的文件:

- | | |
|---|--|
| 1. <input checked="" type="checkbox"/> 费用计算页 | 4. <input type="checkbox"/> 缺签字的解释 |
| 2. <input type="checkbox"/> 委托书 | 5. <input type="checkbox"/> 计算机可读形式的核苷酸和/或氨基酸序列表 |
| 3. <input type="checkbox"/> 总委托书副本, 如果有的话, 档案号: | 6. <input type="checkbox"/> 其他 (明确指出): |

第VII栏 申请人、代理人或共同代表的签字或盖章

在每一签字旁注明签字人的姓名, 如果从国际初步审查要求书中看不出此人的职务, 还要注明此人是以什么名义签字的。



由国际初步审查单位填写

1. 国际初步审查要求书的实际收到日期:

2. 在按照细则 60.1(b) 进行改正的情形下, 收到国际初步审查要求书的改正的日期:

3. ☐ 国际初步审查要求书是在自优先权日起 19 个月后收到的, 并且不适合下面 4 或 5 的情形。 ☐ 为此已经通知申请人。

4. ☐ 国际初步审查要求书是在自优先权日起 19 个月的期限根据细则 80.5 延长的期间内收到的。

5. ☐ 国际初步审查要求书是在自优先权日起 19 个月后收到的, 但按细则 82 这种延迟是可以宽恕的。

由国际局填写

于下列日期从国际初步审查单位收到国际初步审查要求书

PCT

第 II 章

费用计算页

国际初步审查要求书附件

| | | | | |
|--|---------------------------------|------------|-----------|-----|
| 国际申请号 申请人或代理人的档案号 PC00261 | 由国际初步审查单位填写 国际初步审查单位日期印章 | | | |
| 申请人 袁浩 | | | | |
| 规定费用的计算 1. 初步审查费 _____ CNY 800.00 P 2. 手续费 _____ CHF 58.25 H (某些国家的申请人有权减缴 75% 的手续费, 如果申请人 (或所有申请人) 有此权利, 把手续费的 25% 填入 H 栏中) 3. 规定费用总额 把 P 栏和 H 栏数额相加 结果填入总计栏中 | | | | |
| <table border="1" style="margin: auto;"> <tr> <td>CNY 800.00</td> </tr> <tr> <td>CHF 58.25</td> </tr> <tr> <td style="border-top: 1px solid black;">总 计</td> </tr> </table> | | CNY 800.00 | CHF 58.25 | 总 计 |
| CNY 800.00 | | | | |
| CHF 58.25 | | | | |
| 总 计 | | | | |
| 缴费方式 <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input type="checkbox"/> 授权国际初步审查单位从帐户中扣除(参见下面) </div> <div> <input type="checkbox"/> 现金 </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input checked="" type="checkbox"/> 支票 </div> <div> <input type="checkbox"/> 印花税票 </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input type="checkbox"/> 邮政汇款 </div> <div> <input type="checkbox"/> 有价证券 </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input type="checkbox"/> 银行汇款 </div> <div> <input type="checkbox"/> </div> </div> | | | | |
| 有关帐户的授权(并非所有国际初步审查单位都允许使用这种缴费方式) 国际初步审查单位/ _____ <div style="margin-left: 20px;"> <input type="checkbox"/> 被授权从本人帐户中扣除上面指明的费用总额。 <input type="checkbox"/> 被授权从本人帐户中扣除上面指明的费用总额中不足部分并转入多余部分 (仅在国际初步审查单位的帐户允许的条件下此授权有效) </div> | | | | |
| 12.12 月.2000 (12.12.00) | | | | |
| 帐 号 _____ | 日期(日/月/年) _____ | | | |
| 签 字 _____ | | | | |

